

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

Rubisco – enzim koji griješi

Rubisco – enzyme which makes mistakes

SEMINARSKI RAD

Petar Mohorović

Preddiplomski studij molekularne biologije

(Undergraduate Study of Molecular Biology)

Mentor: izv. prof. dr. sc. Željka Vidaković-Cifrek

Zagreb, 2014.

Sadržaj

| | |
|-------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. Uvod..... | 1 |
| 2. Struktura, uloga i aktivacija Rubisca | 2 |
| 2.1 Struktura | 2 |
| 2.2 Koje reakcije katalizira? | 4 |
| 2.3 Aktivacija | 5 |
| 3. Rubisco – enzim koji griješi..... | 6 |
| 3.1 Fotorespiracija kao posljedica oksigenazne aktivnosti Rubisca | 9 |
| 3.2 Oblici Rubisca i njegova evolucija | 11 |
| 4. Drugi aspekti | 16 |
| 4.1 Hipoteza regulacije zraka | 16 |
| 4.2 Ostale uloge Rubisca | 18 |
| 5. Zaključak..... | 19 |
| 6. Literatura..... | 20 |
| 7. Sažetak | 22 |
| 8. Summary | 22 |

Popis kratica

3PGA – 3-fosfoglicerat

AAA – ATPaze povezane s različitim stanjima aktivnosti (ATPases Associated with diverse cellular Activities)

CABP – 2-karboksirabinitol-1,5-bisfosfat

CBB ciklus – Calvin-Benson-Basshamov ciklus

CKABP – 2-karboksi-3-keto-arabinitol-1,5-bisfosfat

Rubisco – ribuloza-1,5-bisfosfat karboksilaza/oksigenaza

RuBP – ribuloza-1,5-bisfosfat

1. Uvod

Svim živim bi ima koja su živjela, koja žive i koja će živjeti na planetu Zemlji, zajedničko je jedno svojstvo – sadrže ugljik kao temeljni element života. Što to to no zna i? Jesmo li svi mi stvoreni od materije koja zaostaje nakon logorske vatre? Ili kojeg drugog oblika ugljika poput grafita unutar olovke? Može se reći i da na neki način jesmo. Ugljikovi atomi zbog svojih posebnih svojstava formiraju okosnicu gotovo svih važnih bioloških makromolekula u našem, ali i svim drugim živim organizmima. Dakle, kad kažemo da je život zasnovan na ugljiku, zapravo mislimo da je naša kosa, koža, stanice, gotovo sve u nama, ali i u drugim organizmima sastavljeno od molekula koje sadrže veliku količinu ugljikovih atoma. Drugim riječima, bez ugljika, život kakvog znamo ne bi bio moguć.

Općenito je poznato da je ugljik u prirodi sveprisutan u različitim oblicima: od kalcijeva karbonata koji sačinjava sedrene barijere, do plinovitog ugljikovog dioksida kao sastavni dio atmosfere. Međutim, iako je ugljik sveprisutan u obliku raznih anorganskih spojeva oko nas, mi ljudi, kao i sva biološka životinjskog carstva, ne možemo ga samo tako uzeti i iz njega stvoriti organske spojeve potrebne za opstanak. Na sreću, dio smo jednog ciklusa koji nam omogućuje posredno dobivanje toliko nam potrebnog ugljika.

Određeni su organizmi razvili tu predivnu mogućnost kemijske pretvorbe oksidiranog anorganskog ugljika u reducirani organski. Kopnene i morske biljke te specijalizirani mikroorganizmi razvili su sposobnost primanja i ugradnje ugljikovog dioksida iz atmosfere, tj. stvaranja potrebnih spojeva za rast i razvoj, spojeva koji mogu poslužiti i nama. Zahvaljujući tim organizmima, ugljik koji nam je toliko potreban, postao nam je dostupan u obliku organskih spojeva. Biljojedi konzumiraju biljke uzimajući i gotove organske spojeve koji se u njihovom organizmu u nizu reakcija pretvaraju u njihove korisne spojeve; mesojedi konzumiraju ostale životinje i na taj način sebi priskrbljuju potrebne spojeve. Cijeli taj ciklus ugljika zatvara se oslobađanjem CO_2 u procesu respiracije i ponovnim ispuštanjem plinovitog CO_2 u atmosferu.

Različiti enzimatski mehanizmi razvili su se kako bi katalizirali redukciju anorganskog ugljika. Jedan od tih mehanizama je i Calvin-Benson-Basshamov (CBB) ciklus koji je, s biokemijskog stajališta, put kojim se najviše CO_2 reducira u organski ugljik. U tom ciklusu sudjeluju mnogi enzimi. Stoga, može se smatrati da je ključ za poštovanje tog životno važnog

ciklusa upravo taj enzim koji omogućuje i započinje fiksaciju ugljikovog dioksida, enzim o kojem indirektno ovisi većina živih bića i bez kojeg današnji oblik života ne bi bio moguć.

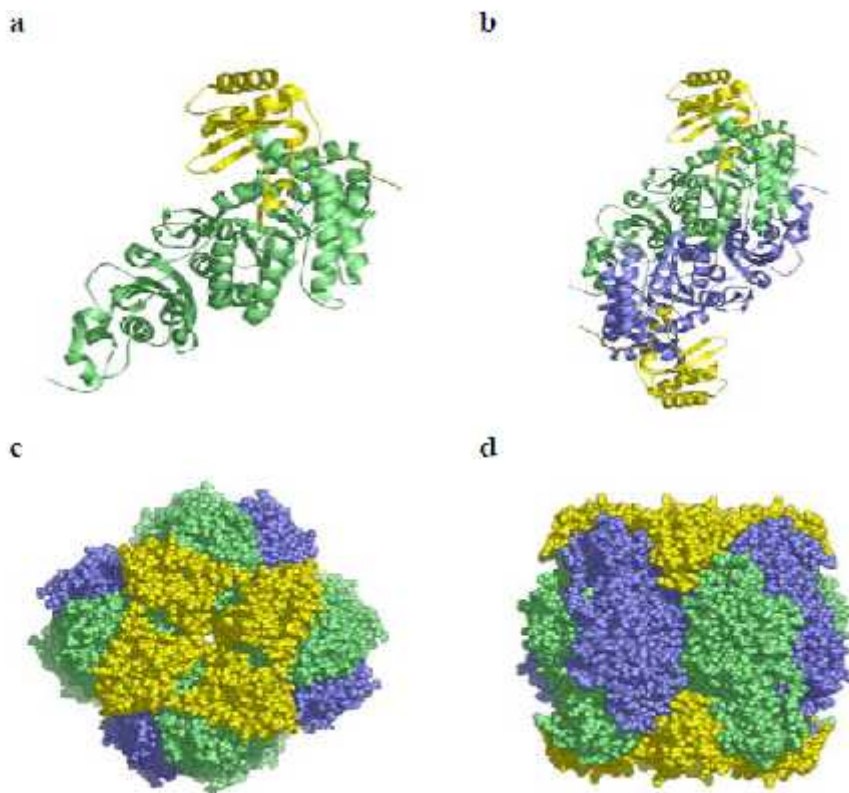
Tema ovog rada upravo je taj ključni enzim, ribuloza-1,5-bisfosfat karboksilaza/oksigenaza, poznat i pod nazivom Rubisco. Po prirodi je bifunkcionalni enzim jer, osim s CO_2 , reagira i s molekularnim kisikom što indirektno uzrokuje gubitak energije, a i ugljika za biljke. Zbog te činjenice, smatra se da je Rubisco enzim koji griješi. No, je li to zaista tako? U narednim poglavljima biti objašnjeni uzroci njegovih grešaka, koje to ima značenje za biljke i biti prikazana priroda Rubisca u drugom svjetlu.

2. Struktura, uloga i aktivacija Rubisca

2.1 Struktura

Kao što je već rečeno, enzim ribuloza-1,5-bisfosfat karboksilaza/oksigenaza, poznatiji pod nazivom Rubisco, ključan je za život na Zemlji kao ulazna točka CO_2 u biosferu. Svi fotosintetski organizmi ugrađuju ugljik iz atmosferskog CO_2 u ugljikohidrate potrebne za rast i razvoj. Gotovo svi ugljikovi atomi prisutni u živim organizmima prošli su kroz aktivno mjesto Rubisca, a k tome, on je najprisutniji enzim na Zemlji, prisutan u svojoj vegetaciji, na kopnu i u oceanima i sačinjava gotovo 50% ukupnih proteina u biljci.

Sam enzim sastoji se od osam velikih (L) katalitičkih podjedinica (približno 55 kDa svaka) i osam malih (S) podjedinica (oko 14 kDa svaka), što cjelovitom proteinu (L_8S_8) daje molekularnu težinu od otprilike 560 kDa (Taiz i Zeger 2010). Osam L podjedinica raspoređeno je kao oktamerna jezgra okružena s dva sloja od po četiri S podjedinice, svakim lociranim na suprotnim krajevima molekule (Sl. 1). Geni koji kodiraju malu (*rbcS*) i veliku (*rbcL*) podjedinicu Rubisca kritični su za pravilno funkcioniranje autotrofnih stanica (Taiz i Zeger 2010, www.cambridgecapp.wordpress.com/improving-photosynthesis/rubisco/). Za razliku od prokariota, u kojima se ekspresija gena i biosinteza proteina zbivaju u istom stanišnom odjeljku (citosol), Rubisco većine eukariotskih organizama slaže se koordiniranom akcijom i interakcijom više biokemijskih procesa koji se mogu odvijati i u nekoliko stanišnih odjeljaka.



Slika 1. Raspored podjedinica heksadekamernog Rubisca. L podjedinice prikazane su zelenom i plavom bojom, a S podjedinice žutom. (a) Jedna L i jedna S podjedinica. (b) Dvije jedinice LS u međusobnoj interakciji (c) Cjeloviti holoenzim (L_8S_8) prikazan odozdo i (d) postrance. Preuzeto iz S. Karkehabadi (2005).

Svjetloš u aktivirana ekspresija *rbcS* gena u jezgri biljaka i zelenih alga dovodi do sinteze polipeptidnog prekursora na citosolnim ribosomima. Translokacijom kroz ovojnicu kloroplasta cijepa se N-terminalni dio peptida i oslobađa zreli oblik u stromu kloroplasta. Genom kloroplasta biljaka i zelenih algi kodira *rbcL*, stoga se biosinteza velikih podjedinica zbiva u potpunosti na kloroplastnim ribosomima. Slaganje Rubisca u cjeloviti i funkcionalan protein zbiva se u kloroplastu. Posebni proteini, koji moduliraju protein i potpomažu slaganju, kao izvor energije koriste ATP. Ovi proteini, zvani šaperonini, modificiraju nekovalentne interakcije ciljanih proteina i dovode do nastanka aktivnog oblika enzima.

Danas je više od dvadeset struktura Rubisca istraženo ogibanjem X-zraka na kristaliziranom enzimu iz bakterije *Rhodospirillum rubrum* zbog čega nam je pružen uvid u aktivno mjesto s vezanim supstratom, produktom i analogima prijelaznih stanja (Spreitzer i Salvucci 2002). Iz kristalografskih struktura zaključeno je da C-terminalna domena velike podjedinice svakog enzima formira klasu / ba vu, sastavljenu od zavojnica i plo a

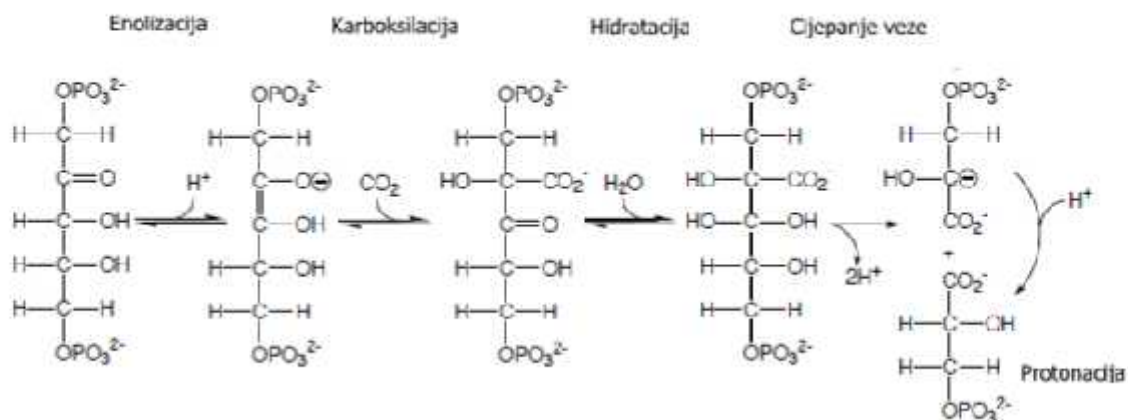
povezanih petljama. Aminokiseline koje se nalaze u petljama između i zavojnica nalaze se u interakciji s analogom prijelaznog stanja, 2-karboksirabinitol-1,5-bisfosfat (CABP). Budući da nekoliko aminokiselina N-terminalne domene susjednih velikih podjedinica sudjeluju u aktivnom mjestu, smatra se da je funkcionalna jedinica Rubisca dimer velikih podjedinica. Zbog toga uloga malih podjedinica ostaje nepoznanica.

2.2 Koje reakcije katalizira?

Sad, kad je objašnjena njegova struktura, mogu se pojasniti reakcije koje Rubisco katalizira.

Karboksilacija, glavna reakcija katalizirana Rubiscom, uključuje dodavanje CO_2 na molekulu šećera koja se sastoji od pet ugljikovih atoma – ribuloza-1,5-bisfosfat (RuBP) – i nastaju dvije molekule 3-fosfoglicerata (3PGA). To je glavna reakcija koju enzim katalizira i nastaju produkti koji odlaze dalje kroz CBB ciklus. Ova reakcija može se podijeliti u nekoliko koraka (Sl. 2) (Karkehabadi 2005):

- 1) **Enolizacija** – deprotonacija C-5 supstrata što rezultira stvaranjem 2,3-enediol intermedijera.
- 2) **Karboksilacija** – dodavanje molekule CO_2 na 2,3-enediol daje intermedijer od šest ugljikovih atoma – 2-karboksi-3-keto-arbinitol-1,5-bisfosfat (CKABP).
- 3) **Hidratacija** – hidratacija CKABP pri čemu nastaje gem-diol
- 4) **Kidanje ugljik-ugljik veze** – deprotonacija gem-diola uzrokuje kidanje ugljikove veze i rezultira stvaranjem jedne molekule 3PGA i jednog 3PGA u obliku karbaniona.
- 5) **Protonacija** – karbanion biva protoniran i nastaje druga molekula 3PGA.

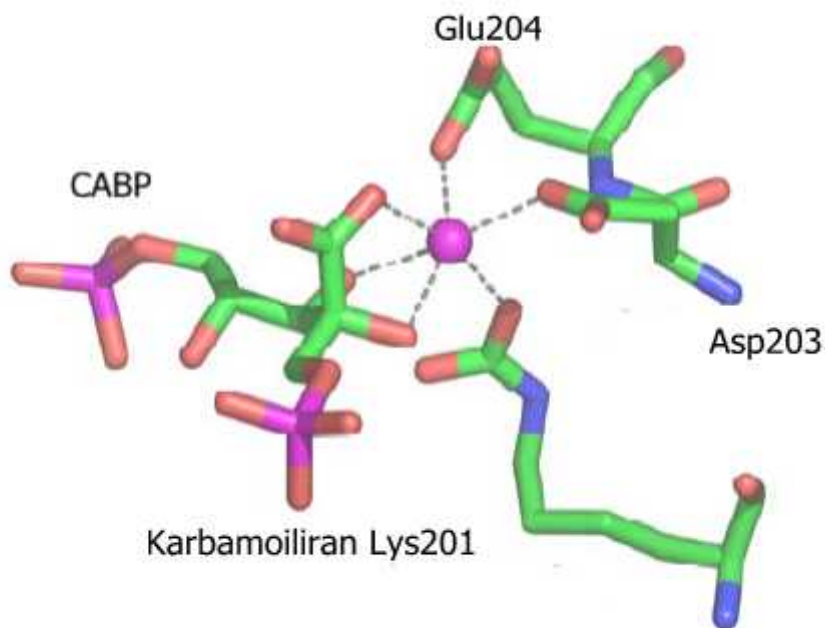


Slika 2. Parcijalne reakcije karboksilacije katalizirane Rubiscom. Preuzeto i prilagođeno iz S. Karkehabadi (2005).

2.3 Aktivacija

Kako bi došlo do karboksilacije, Rubisco prvo treba biti aktiviran. Kataliti ki aktivni oblik Rubisca je kompleks enzim- $\text{CO}_2\text{-Mg}^{2+}$, u kojem molekula CO_2 nije ona koja ulazi u samu reakciju (Sl. 3). Prvi korak u aktivaciji je reakcija CO_2 s nenabijenom amino skupinom lizina 201 (Lys-201) u aktivnom mjestu enzima - karbamoilacija. Karbamoilacija lizina zbiva se spontano pri blago lužnatim uvjetima, zbog toga što je pri tim uvjetima amino skupina u nenabijenom obliku. Rezultiraju i karbamat je negativno nabijen i sposoban vezati pozitivno nabijen ion magnezija (Lorimer i Miziorko 1980) koji ga stabilizira, zajedno s odre enim aminokiselinama aktivnog mjesta. Ovime je proces aktivacije završen (Karkehabadi 2005).

Osim ovog, postoji još nekoliko na ina aktivacije enzima, a jedan od njih je i uz pomo enzima Rubisco aktivaze (Spreitzer i Salvucci 2002, Karkehabadi 2005). Dok je Rubisco inaktivan, u njegovom aktivnom mjestu vrsto je vezana molekula ribuloza-1,5-bisfosfata. Samim time što ta molekula fizi ki smeta, ne može do i do karbamoilacije i enzim ostaje inaktivan. Kako bi omogu ile disocijaciju molekule iz aktivnog mjesta, biljne stanice sadrže Rubisco aktivazu, ATP ovisan enzim koji otpušta vrsto vezan še er iz aktivnog mjesta.



Slika 3. Koordinacijska ljuska iona magnezija je u gotovo savršenom oktaedarskom rasporedu. Tri koordinacijske veze zauzima analog prijelaznog stanja, CABP, a ostale tri bočni lanci Asp-203, Glu-204 i Lys-201. Preuzeto i prilagođeno iz S. Karkehabadi (2005).

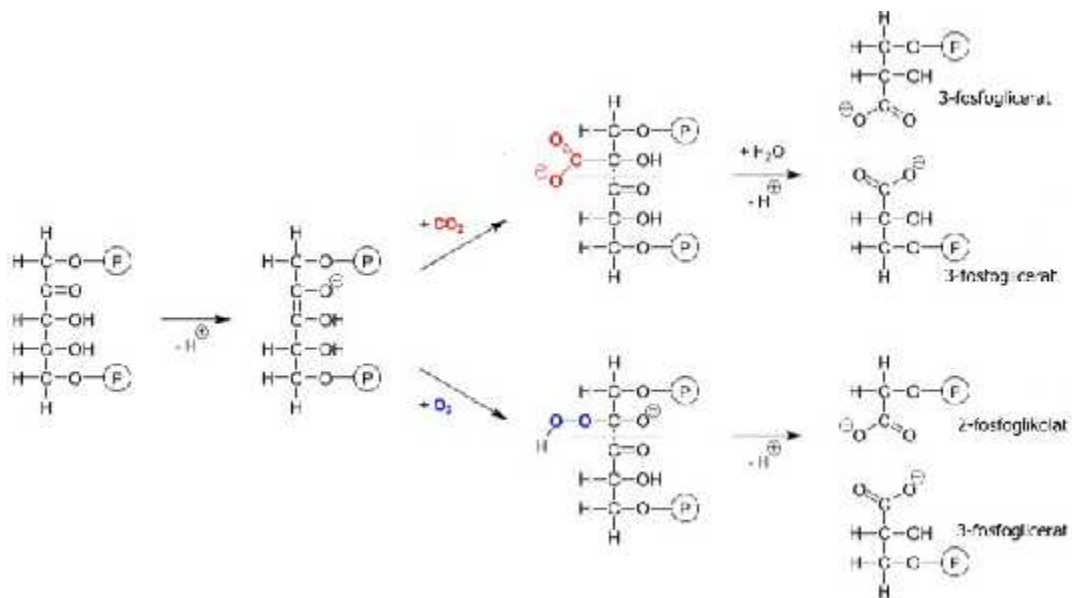
Aktivaza je AAA^+ protein, član superseta proteina povezanih s AAA (ATPaze povezane s različitim stanjima aktivnosti), obitelji koja uključuje širok raspon proteina s funkcijama sličnim šaperonima. Aktivaza interagira s Rubiscom nekako olakšavajući i otpuštanje vezanog šećera iz aktivnog mjesta. Interakcija gotovo sigurno uključuje promjenu konformacije Rubisca iz “zatvorene” u “otvorenu”. Jednom kad aktivaza otvori zatvoreno aktivno mjesto, šećer može disociirati, a karbamoilacija može nastupiti (Karkehabadi 2005).

3. Rubisco – enzim koji griješi

Rubisco je evoluirao prije otprilike tri milijarde godina, vjerojatno od enzima uključeni u metabolizam sumpora (Peterhansel i sur. 2010). U vrijeme evolucije Rubisca, jedini izvor molekularnog kisika u atmosferi vjerojatno je bila fotoliza vode pod utjecajem UV zračenja i njegova koncentracija je bila 10^{14} puta manja od današnje. U isto vrijeme, koncentracija CO_2 bila je najmanje sto puta veća nego danas. Pretpostavlja se da su prvotni enzimi bili jako loši u raspoznavanju CO_2 od O_2 zbog nedostatka evolucijskog pritiska. Drugim riječima, nije bilo potrebe za razvijanje mehanizama razlikovanja te dvije molekule budući da O_2 gotovo nije ni

postojao. Pojavom oksigene fotosinteze u cijanobakterija, velike količine CO_2 bivaju fiksirane u biomasu. Velik dio fiksiranog ugljika nikad nije vraćen u ciklus jer je biomasa dijelom sedimentirala. Istodobno, ekvimolarne količine O_2 bivaju oslobođene u atmosferu pri cijepanju molekule vode budući da je ona korištena kao donor elektrona u fotosintetskom lancu prijenosa elektrona. Cijanobakterije, a ujedno i alge u razvoju i posebice kopnene biljke postale su toliko uspješne u tim procesima da je O_2 postao drugi najprisutniji plin u današnjoj atmosferi, a CO_2 ekstremno oskudan.

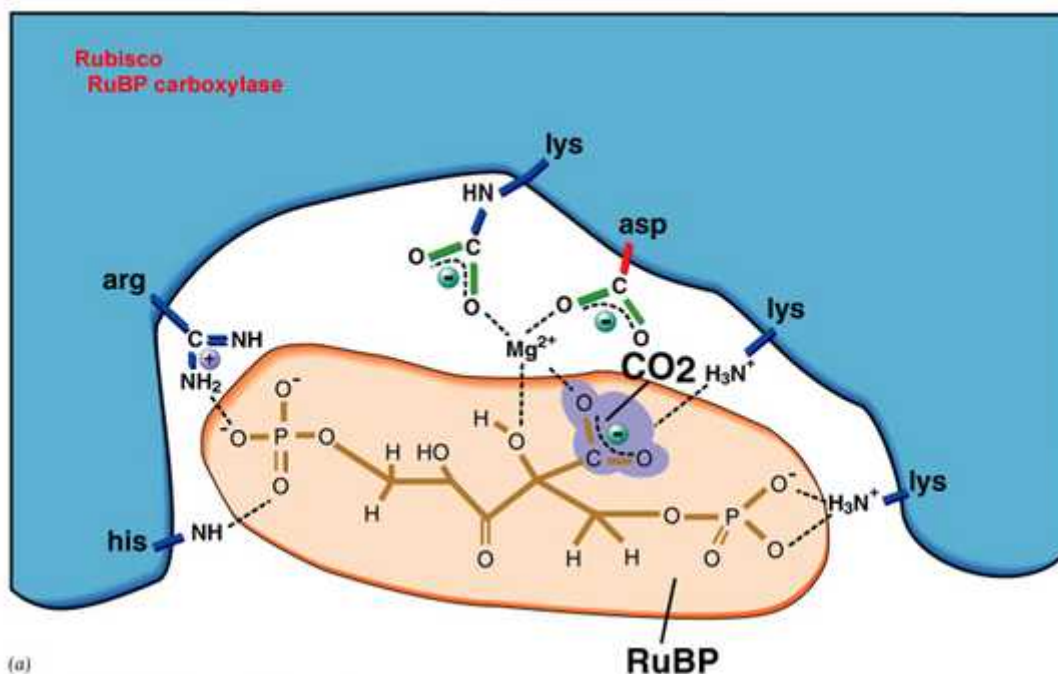
Zbog toga što je molekula CO_2 malena isto kao i molekula O_2 , Rubisco nije mogao uinkovito razlikovati jednu od druge. Stoga, pojavom te nove molekule, dolazi do izražaja bifunkcionalna priroda enzima. Molekuli CO_2 kompetira molekula O_2 , a budući da su i CO_2 i O_2 male molekule, a i zato jer je, kao što je već rečeno, Rubisco evoluirao u vremenima kad je koncentracija kisika u atmosferi bila zanemariva, enzim nema savršenu specifičnost za CO_2 zbog čega obje molekule mogu poslužiti kao supstrati. To je velik problem za biljke jer u ovoj reakciji RuBP biva oksigenirana (Sl. 4) pri čemu umjesto dvije molekule 3PGA nastaje jedna molekula 3PGA i jedna molekula 2-fosfoglikolata (Spreitzer i Salvucci 2002).



Slika 4. Reakcije karboksilaze i oksigenaze katalizirane Rubiscom. Intermedijer 2,3-enediol može reagirati s CO_2 ili O_2 pri čemu nastaju različiti produkti. Preuzeto i prilagođeno iz www.slideshare.net/thelawofscience/photosynthesis-calvin-cycle

Fosfoglikolat ne može biti pretvoren izravno u šećere u CBB ciklusu stoga su biljke morale “pronaći” drugi način kako nadoknaditi ugljik koji je u obliku molekule fosfoglikolata potencijalno izgubljen. U tu svrhu biljke i alge razvile su cijeli niz energetski “skupih” reakcija koje se odvijaju u različitim staničnim odjeljcima. Taj je proces poznat kao fotorespiracija.

Prije nastavka, potrebno je objasniti koje su to reakcije koje dovode do nastanka 2-fosfoglikolata. Nakon prve parcijalne reakcije kojom nastaje intermedijer 2,3-enediol, kataliza može krenuti u dva smjera ovisno o tome stupi li Rubisco u reakciju s CO_2 ili O_2 (Spreitzer i Salvucci 2002). Zatvaranje određene petlje u blizini aktivnog mjesta utječe na poziciju ϵ -amino skupine lizina-334 koji, uz Mg^{2+} stabilizira prijelazno stanje (Sl. 5). To prijelazno stanje, u slučaju CO_2 , je 2-karboksi-3-ketoarabinitol-1,5-bisfosfat (CKABP), a u slučaju O_2 to je 2-peroksi-3-ketoarabinitol-1,5-bisfosfat. Problem je u tome što su ta dva prijelazna stanja međusobno veoma slična (Sl. 4). Pretpostavlja se da je upravo ta sličnost izmeđ u prijelaznih stanja razlog zašto Rubisco ponekad reagira i s kisikom kao supstratom. Kad bi prijelazno stanje nakon reakcije s kisikom bilo drugačije od onog nakon reakcije s CO_2 , možda bi tada specifičnost prema CO_2 bila veća.

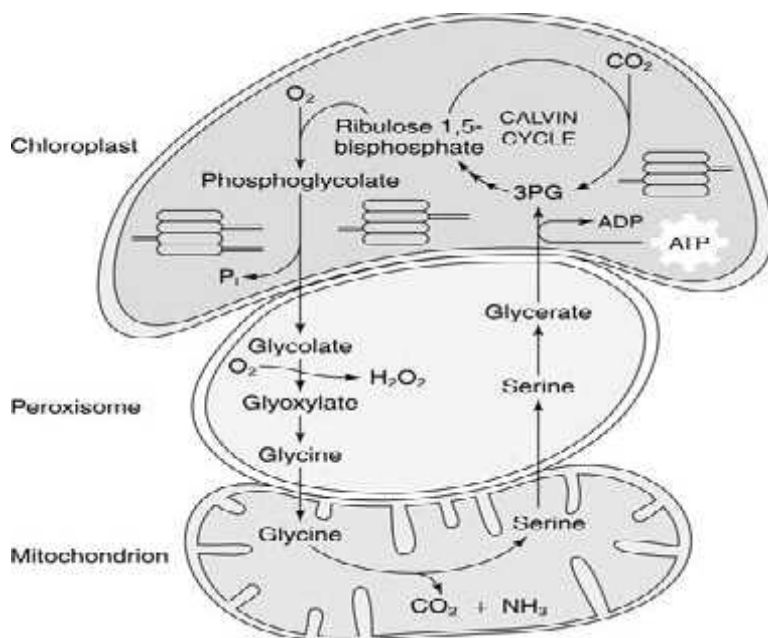


Slika 5. ϵ -amino skupina lizina-334 uz Mg^{2+} stabilizira prijelazno stanje. Preuzeto i prilagođeno [www.chemwiki.ucdavis.edu/Wikitexts/UC_Davis/UCD_Chem_124A%3A_Berben/Ribulose_1,5-bisphosphate carboxylase \(rubisco\)/Rubisco 1](http://www.chemwiki.ucdavis.edu/Wikitexts/UC_Davis/UCD_Chem_124A%3A_Berben/Ribulose_1,5-bisphosphate_carboxylase_(rubisco)/Rubisco_1)

Dakle, 2-fosfoglikolat dobiven u reakciji enzima Rubisco i O_2 mora se na neki način reciklirati, a to je moguće nizom reakcija u procesu poznatom kao fotorespiracija.

3.1 Fotorespiracija kao posljedica oksigenazne aktivnosti Rubisca

Proces fotorespiracije zbiva se u nekoliko različitih organela (Sl. 6), a započinje u specijaliziranim organelima koji se nazivaju peroksisomi (Peterhansel i sur. 2010). Peroksisomi su u biljnoj stanici često smješteni između kloroplasta i mitohondrija i služe za prijenos produkata oksigenacije. U kloroplastima, fosfoglikolat biva defosforiliran i nastaje glikolat. Glikolat je transportiran u peroksisom gdje ga molekularni kisik dalje oksigenira do gliksilata. Produkt je i vodikov peroksid, H_2O_2 koji se brzo raspada pod utjecajem enzima katalaze na vodu i kisik. Gliksilat biva amidiran u aminokiselinu glicin u peroksisomu. Glicin dalje biva transportiran u matriks mitohondrija gdje se zbiva konverzija dva glicina u jedan serin uz gubitak molekule CO_2 i amonijaka, NH_3 . Serin je transportiran u peroksisom, gdje je deaminiran u glicerat. Glicerat je transportiran natrag u kloroplast gdje je fosforiliran u 3PGA koji se vraća u CBB ciklus.



Slika 6. Osnovne reakcije fotorespiracije kojima se 2-fosfoglikolat prevodi u 3-fosfoglicerat. Preuzeto iz Peterhansel i sur. (2010).

Iz ovog opisa vidi se zašto se ovaj set reakcija smatra gubitkom za biljku. Fotorespiracija smanjuje uinkovitost fotosinteze iz nekoliko razloga: Prvo, kisik biva dodan ugljiku. Drugim riječi ima, ugljik je oksidiran što je zapravo suprotno od fotosinteze – redukcija ugljika u ugljikohidrate. Nadalje, u tom procesu dolazi do oslobađanja, tj. gubitka CO_2 , a RuBP je nepovratno izgubljen. Sve to također konzumira energiju što je još jedan veliki gubitak za biljke. Umjesto da tu energiju koristi u procesima izgradnje vlastitog organizma, biljka ju troši na popravljjanje štete.

Nadalje, stopa fotorespiracije je viša pri toplijim i suhim uvjetima iz tri razloga (Peterhansel i sur. 2010, www.lifeofplant.blogspot.com/2011/03/photorespiration.html):

1. Specifičnost Rubisca za CO_2 u odnosu na O_2 smanjuje se s porastom temperature.
2. Topivost O_2 u vodenim otopinama poput citoplazme i strome kloroplasta je pod manjim utjecajem povišenja temperature nego topivost CO_2 .
3. Biljke koje se nalaze u uvjetima manjka vode zatvaraju pupu i kako bi smanjile gubitak vode transpiracijom. Zbog toga se smanjuje difuzija CO_2 u biljku. Oksigenaznoj aktivnosti pogoduje povišena koncentracija kisika u blizini Rubisca. Drugim riječi ima, vjerojatnost da će nastupiti reakcija oksigenaze veća je kad je koncentracija kisika viša od one prisutne u uobičajenim (optimalnim) uvjetima. Pod ovakvim uvjetima, koncentracija CO_2 unutar lista može biti blizu kompenzacijske točke CO_2 tj. one koncentracije CO_2 pri kojoj je asimilacija CO_2 u procesu fotosinteze jednak oslobađanju CO_2 fotorespiracijom i disanjem. Kada bi takvi uvjeti potrajali dulje vrijeme, u konačnici bi uzrokovali nemogućnost biljke da raste autotrofno.

Zaključno, oksigenazna aktivnost Rubisca, koja dovodi do fotorespiracije, predstavlja značajan gubitak u fiksaciji ugljika. Zbog toga se oksigenazna aktivnost smatra greškom. Neke biljke su ipak uspjele donekle riješiti taj problem razvivši mehanizme kojima koncentriraju CO_2 u blizini Rubisca. Tako, na primjer, C_4 biljke prostorno odvajaju asimilaciju CO_2 (u mezofilnim stanicama) enzimom fosfoenol-piruvat karboksilazom od reakcija koje provodi Rubisco (u štapičastim stanicama). Svejedno, to je tek izbjegavanje štete, a ne njezino eliminiranje. Stoga se postavlja i jedno važno pitanje: Zašto je Rubisco, ako već griješi, opstao?

3.2 Oblici Rubisca i njegova evolucija

Evolucija se uvijek "pobrine" za to da se riješi molekula, mehanizama pa čak i organizama u cjelini koji se zbog svoje neuinkovitosti ne mogu prilagoditi uvjetima. Rubisco zbog svoje prirode griješi tj. zbog oksigenazne aktivnosti uzrokuje gubitak energije i ugljika tijekom fotorespiracije. Zašto je onda opstao? Zbog čega ga evolucija nije izbrisala iz postojanja ili barem promijenila budući da stvara probleme za biljke? Čak suprotno, kao što je već prije rečeno, Rubisco čini gotovo 50% svih topljivih proteina u biljci. Imaju li sve to na umu, možda je ipak bolje postaviti pitanje: *Kako je Rubisco opstao?*

Sustav s Rubiscom savršeno je funkcionirao milijunima godina, sve dok se nije pojavio kisik. Organizmi su jednostavno zapeli s tim enzimom stoga su imali dvije opcije. Ili razviti posve novi sustav bez Rubisca, što bi trajalo milijunima godina, ili jednostavno usavršavati Rubisco kako bi se ublažila njegova oksigenazna aktivnost. Brojnim istraživanjima i eksperimentima pokazano je da je evolucija "odlučila" krenuti upravo tim putem, usavršavati Rubisco čime se on prilagodio uvjetima u kojima se našao. Činjenica da je razina O_2 u atmosferi do petsto puta veća nego CO_2 no ipak, nekako, Rubisco fiksira u prosjeku četiri molekule CO_2 na svaku molekulu O_2 što govori da je Rubisco, unatoč tome što griješi, upravo onakav kakav treba biti. Prije objašnjenja zašto je to tako i iznošenja dokaza koji idu u prilog toj hipotezi, potrebno je napomenuti da postoji nekoliko oblika Rubisca (Tabita i sur. 2008a).

Najzastupljeniji oblik Rubisca je **oblik I** (Form I). To je oblik o kojem je dosad bilo riječi; protein visoke molekularne mase prvotno pronađen u višim biljkama, eukariotskim algama, cijanobakterijama i proteobakterijama. Postoje četiri potklase oblika I Rubisca, označenih s IA, IB, IC i ID, pronađenih u različitim organizmima (Sl. 7).

Oblik II Rubisca pronađen je u različitim tipovima proteobakterija i u jednoj grupi eukariota – dinoflagelatima. Sastoji se samo od velikih podjedinica koje dijele otprilike 30% sličnosti u sekvenci s podjedinicama oblika I. Enzimi oblika II razlikuju CO_2 od O_2 manje uspješno od enzima oblika I, dakle imaju smanjenu specifičnost prema CO_2 . Taj se oblik često nalazi u organizmima koji također sadrže i oblik I. U takvim slučajevima, oblik II Rubisca najvjerojatnije ne služi glavnoj ulozi fiksacije ugljika, već zajedno s drugim enzimima CBB ciklusa

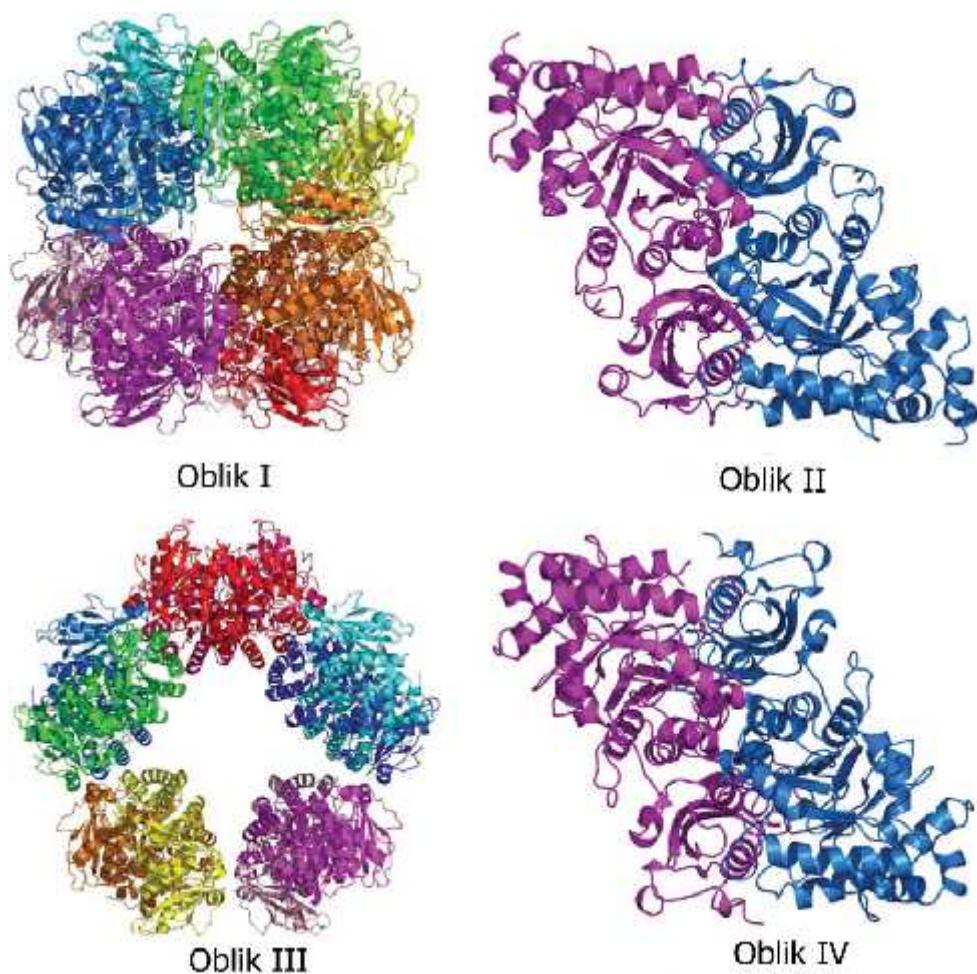
omogu uje ugljikovom dioksidu da posluži kao akceptor elektrona i ima ulogu u održavanju redoks ravnoteže sustava. U organizmima koji prvenstveno sadrže oblik II, oblik I Rubisca se selektivno sintetizira pri nižim koncentracijama CO₂ budu i da ima ve i afinitet prema CO₂ od oblika II.

Oblik III je dosad prona en samo u arhejama. Ve ina enzima oblika III koji su istraživani dolaze iz anaerobnih ekstremofila koji su jako osjetljivi na prisustvo kisika, posebice zato što imaju neuobi ajeno visok afinitet prema njemu.

Oblik IV, skupina enzima tako er poznata kao i proteini sli ni Rubiscu (Rubisco-like proteins), su enzimi koji nemaju kataliti ku aktivnost tipi nu za Rubisco. Oni jedino imaju s Rubiscom sli nosti u primarnoj i tercijarnoj strukturi što govori da su potekli od nekog zajedni kog pretka.

U ovom slu aju, zadržat emo se na obliku III, tj. arhejskom obliku Rubisca. Otkri e tog oblika enzima, dobivenog iz organizama koji nikad nisu u doticaju s molekularnim kisikom, daje mogu nost prou avanja kako je aktivno mjesto Rubisca moglo evoluirati. Kao modelni organizam znanstvenici su koristili arheju *Archaeoglobus fulgidus*, anaerobni organizam iji Rubisco ima visok afinitet prema molekularnom kisiku i jako slabu mogu nost razlikovanja CO₂ od O₂ (Tabita i sur. 2008b). Bioinformati kim i strukturnim usporedbama svih arhejskih Rubisca oblika III ukazano je na postojanje jedinstvenih aminokiselina koje su pozicionirane na na in da dolaze u interakciju sa supstratima u aktivnom mjestu. Ciljanom mutagenезom promijenjen je slijed aminokiselina ime je omogu eno pra enje promjene afiniteta i specifi nosti Rubisca prema supstratima. Jedna od tih aminokiselina je i metionin-295, kojeg su znanstvenici ciljanom mutagenезom zamijenili s aspartatom i rezultiraju i mutirani protein M295D mogao je puno uspješnije i brže vratiti aktivnost nakon izlaganja kisiku nego divlji tip enzima arheje *A. fulgidus*. To je bilo konzistentno s pove anjem K_m vrijednosti (Michaelis-Menten konstante za O₂) iz 51 μM u divljeg tipa enzima do 241 μM za M295D enzim. Drugim rije ima, u mutiranom proteinu smanjio se afinitet prema kisiku i trostruko se pove ala specifi nosti za CO₂ u usporedbi s divljim tipom.

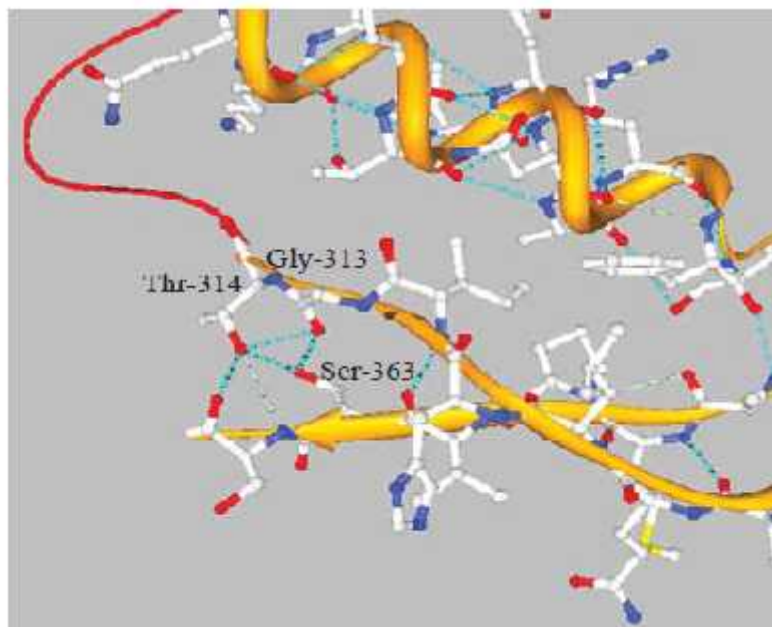
Strukturne analize pokazale su da je Met-295 smješten u hidrofobnom džepu koji ome uje aktivno mjesto i da se nalazi u blizini visoko o uvanog arginina, Arg-279 prona enog u svim oblicima Rubisca (Sl. 9). Tako er, pokazao se važnim i potrebnim za vezanje supstrata RuBP. U divljem tipu *A. fulgidus*, Arg-279 nikakvim vodikovim vezama nije u interakciji s



Slika 7. Strukture različitih oblika Rubisca. Oblik I sastavljen je od četiri dimera velikih podjedinica s malim podjedinicama koje okružuju L_8 oktamersku jezgru. Samo oblik I ima male podjedinice. Oblik II je sastavljen samo od dimera velikih podjedinica L. Oblik III je pronađen samo u nekih arheja i sastavljen od dimera L u L_2 ili $(L_2)_5$ rasporedu kao što je prikazano na slici. Oblik IV (Proteini slični Rubiscu) uvijek ima L_2 strukturu. Preuzeto i prilagođeno iz Tabita i sur. (2008b).

drugim aminokiselinama. Međutim, modelne strukture pokazuju da mutacija u aspartat na mjestu Met-295 omogućuje ionsku interakciju između kisika hidroksilne grupe bočnog lanca aspartata s jednim od dušikovih atoma u Arg-279 (Sl. 9). Što je još zanimljivije, takvo povezivanje vodikovim vezama zapravo i postoji u svim ostalim oblicima I i oblicima II Rubisca što znači da je tokom evolucije došlo do izmjene određenih aminokiselina koje su omogućile ionske interakcije. Na primjer, utvrđeno je povezivanje kisikovog atoma karbonilne grupe His-324 s dotičnim argininom u enzimu organizma *Synechococcus* PCC 6301.

Daljnijim istraživanjem otkrivena je još jedna aminokiselina, Ser-363, za koju se predviđa da ima isti utjecaj na osjetljivost na kisik organizma *A. fulgidus* (Tabita i sur. 2008a). Ser-363 je smješten u hidrofobnom džepu koji, kako se vidi, okružuje jedan dio aktivnog mjesta. Također, pokazana je i interakcija bojnog lanca Ser-363 s dvjema visoko očuvanim i katalitički važnim aminokiselinama – Gly-313 i Thr-314 (Sl. 8).

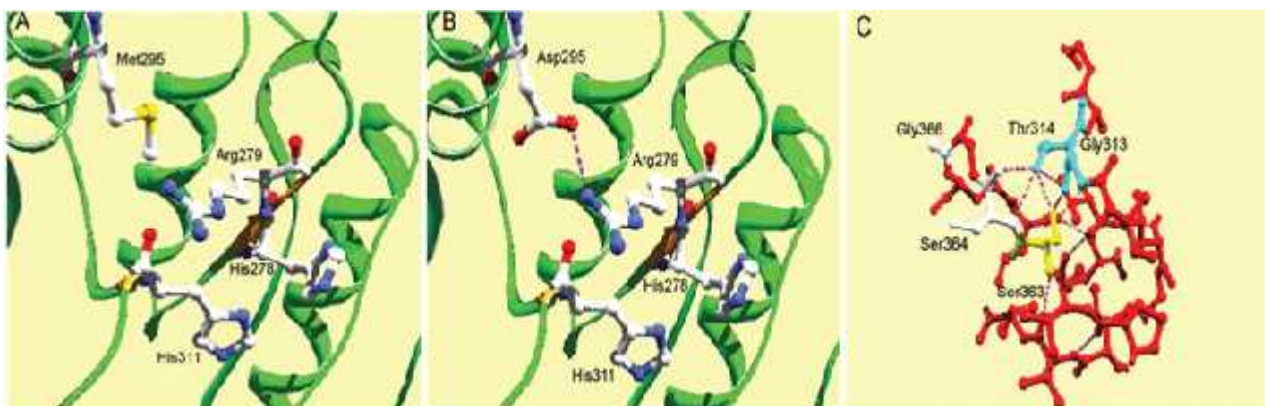


Slika 8. Hidrofobni džep enzima oblika III organizma *A. fulgidus* s prikazanim interakcijama Ser-363 s visoko očuvanim aminokiselinama Gly-313 i Thr-314. Preuzeto iz Tabita i sur. (2008a).

Budući da su poznate aminokiseline aktivnog mjesta Rubisca oblika I i II, Ser-363 je zamijenjen upravo aminokiselinama pronađenim na ekvivalentnim pozicijama u obliku I i II – izoleucinom i valinom. Kao i M295D enzimi, S363I i S363V enzimi pokazali su puno veću razinu aktivnosti (oko 45-50%) kad su izloženi kisiku u usporedbi s divljim tipom s nezamijenjenim serinom (10-15% aktivnosti). Nadalje, dvostruki mutanti (M295DS363I ili M295DS363V), pokazali su aditivni efekt i oporavili se gotovo 90% nakon izlaganja kisiku. Nedavna istraživanja pokazuju da je K_m vrijednost za dvostruki mutant M295DS363I povišena na 400 μM , što je jako blizu vrijednostima dobivenim za oblik I i oblik II Rubisca. Drugim riječima, afinitet za kisik smanjio se gotovo na razinu afiniteta oblika I i oblika II.

Dakle, iz svega navedenog može se zaključiti sljedeće: Rubisco je evolucijski veoma stara molekula. Oblik III Rubisca javlja se u anoksi nih arheja koje obitavaju u uvjetima bez

prisustva kisika. Suprotno tome, evolucijski mla i oblik Rubisca, oblik I, javlja se u organizmima koji su u doticaju s kisikom. O to je da Rubisco, to jest svi njegovi oblici, dijele zanimljivu povijest i predstavljaju klasi an primjer divergentne evolucije.



Slika 9. Predviđene interakcije s bočnim lancem Met-295 u divljem tipu *A. fulgidus* RbcL₂ (A), mutirani M295D enzim (B), i hidrofobni džep koji okružuje Ser-363 (C). Prikazani bočni lanci su Met-295 (A) i Asp-295 (B), kao i očuvane aminokiseline pronađene u svim drugim oblicima Rubisca. U *A. fulgidus* RbcL₂ i mutantu M295D, His-278, Arg-279 i His-311 prikazani su budući da su potrebni za katalizu i vezanje supstrata - RuBP. Modelna struktura ne predviđa nikakve ionske interakcije između Arg-279 i Met-295 u divljem tipu enzima (A). U M295D mutantu, model predviđa ionske interakcije između hidroksilne skupine Asp-295 i amino skupine Arg-279 (iscrtkana ljubičasta linija). U (C), Ser-363 obojan je žuto i interagira kako bi stvorio trijadu vodikovih veza s visoko očuvanim Gly-313 i Thr-314, obojani plavo. Visoko očuvane i katalitički važne aminokiseline Ser-364 i Gly-366, koje su potrebne za vezanje RuBP, obojane su bijelo. Sve druge hidrofobne aminokiseline koje okružuju Ser-363 formirajući džep obojane su crveno. Preuzeto iz Tabita i sur. (2008b).

Rezultati istraživanja ciljanom mutagenезom potvrđuju hipotezu da se Rubisco razvijao i prilagodio novim uvjetima. Različiti oblici Rubisca pronađeni u prirodi, od kojih neki funkcioniraju u jako ekstremnim ili neuobičajenim uvjetima, strukturno su se prilagodili kako bi omogućili ili što uspješniju katalizu. Mutacijama u određenim aminokiselinama, enzim se prilagodio uvjetima koji su tada bili prisutni. U vremenima kad se najstariji oblik Rubisca, oblik III, pojavio, vladali su uvjeti u kojima je razina kisika bila niska, gotovo neznatna. Tada nije bilo nikakve opasnosti da se O₂ bitni supstrat Rubisca. Međutim, kako su se uvjeti mijenjali, kako je razina kisika počela rasti pojavom oksigene fotosinteze, Rubisco je osim s CO₂ počeo reagirati i s O₂, i to u puno većoj mjeri nego danas što znači da je prvotni oblik jako griješio što dokazuje aktivnost oblika III u arheja. Afinitet prvotnih enzima Rubisco prema kisiku bio je jako visok. Zbog toga, kako bi se prilagodio tim uvjetima i osigurao svoju prvotnu ulogu fiksacije

CO₂, dolazilo je do mutacija koje su mijenjale njegovu aktivnost i specifičnost prema supstratima što je, korak po korak, dovodilo do nastanka današnjeg oblika Rubisca, onog oblika koji je zapravo, unatoč tome što griješi, najsavršenija verzija Rubisca prilagođenog današnjim uvjetima. Upravo to je dokazano ciljanom mutagenezom i ciljanim izmjenama aminokiselina aktivnog mjesta čime se afinitet prema kisiku smanjio sve do razine afiniteta današnjeg najprisutnijeg oblika enzima. Stoga, izjava da je Rubisco neuinkovit i nesavršen može biti zavaravajuća. Rubisco možda griješi, ali da nije došlo do njegova prilagođavanja i usavršavanja tokom milijuna godina, on bi griješio puno više.

4. Drugi aspekti

Dosad se govorilo o glavnoj ulozi Rubisca – fiksaciji ugljika. U tom kontekstu, negativna strana Rubisca dolazi do izražaja. Međutim, oksigenazna aktivnost Rubisca ima i neke pozitivne strane. Ukoliko se njegova priroda sagleda u drugom svjetlu, može se zaključiti da je Rubisco upravo onakav kakav treba biti.

4.1 Hipoteza regulacije zraka

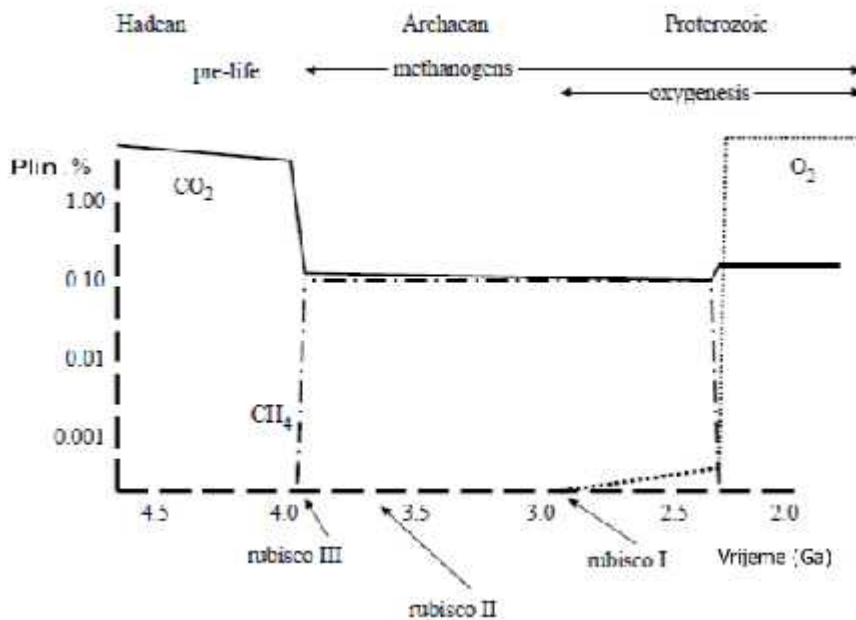
Predložena je hipoteza koja govori da je prirodna selekcija, utjecaj na svojstva Rubisca, kontrolirala omjer CO₂:O₂ atmosfere otkad je došlo do pojave fotosinteze, a time i, posljedično, temperaturu Zemljine atmosfere (Nisbet i sur. 2011). Rubisco, također, u uskoj suradnji s enzimom nitrogenazom kontrolira atmosferski tlak. Zajedno, ta dva enzima kontroliraju globalnu temperaturu i indirektno pH vrijednost oceana. Stoga je koevolucija ta dva enzima mogla stvoriti uvjete na Zemlji koji omogućavaju život kakvog znamo.

U usporedbi s drugim enzimima, Rubisco se možda čini manje učinkovitim, međutim, to svojstvo može biti zavaravajuće. Na molekularnoj razini, analiza kinetike Rubisca oblika I u aerobnim fotosintetskim organizmima ukazuje da je evolucija dovela do gotovo savršenog kompromisa između katalitičke brzine i CO₂:O₂ specifičnosti (Gutteridge i Pierce 2006). Organizmi koji su prilagođeni višim omjerima CO₂:O₂ sadrže Rubisco s većom katalitičkom brzinom i nižom specifičnošću. Suprotno tome, Rubisco s visokom specifičnošću najviše pridonijeti organizmima koji žive u uvjetima niže razine CO₂.

Rubisco je biološki produkt i kao takav podložan prirodnoj selekciji. Kako se okoliš mijenja, evolucija djeluje i na Rubisco. Zbog toga hipoteza regulacije zraka predlaže da je,

barem jednim dijelom, stabilnost planetarne temperature kroz vrijeme održavana prirodnom selekcijom kojom opstaju upravo one molekule Rubisca koje mogu održavati uvjete u kojima je mogu nost za preživljavanjem maksimalna. Drugim rije ima, opstat e samo one molekule Rubisca koje e upravo svojom aktivnoš u i svojim svojstvima održavati i vra ati globalnu temperaturu na tu razinu koja najviše odgovara održavanju života. Selekcija e tokom vremena biti naklonjena onim vrstama koje su najbolje prilago ene preživljavanju zato što na najbolji na in odgovaraju na promjene u okolišu, a i nekom vrstom povratne sprege održavaju optimalne životne uvjete. Primjer za to su C3 i C4 biljke. Naime, C4 biljke su se pojavile u relativno bliskoj geološkoj prošlosti. Razvile su mehanizam kojim mogu koncentrirati CO₂ oko Rubisca i time si omogu iti opstanak pri nižim razinama okolišnog CO₂. Za razliku od njih, C3 biljke, koje nemaju mehanizam koncentracije CO₂, opstaju u uvjetima viših razina atmosferskog CO₂. C4 biljke su bile este u vrijeme ledenih doba, kad je razina atmosferskog CO₂ bila ispod 200 ppm (Sl. 10). U tim okolnostima, C4 biljke imaju prednost nad C3 biljkama upravo zbog toga što mogu koncentrirati CO₂. Me utim, više razine CO₂ u interglacijanim periodima daju prednost C3 biljkama (Bazzaz i Fajer 1992).

U uvjetima povišene razine CO₂, postoji mogu nost da e prirodna selekcija biti naklonjena onim fotosintetskim organizmima koji koriste kataliti ki bržu verziju Rubisca, sa sniženom specifi noš u. Samim time što bolje i brže fiksiraju ugljik uzimaju i ga iz CO₂, razina CO₂ e postupno padati što kao posljedicu ima i snižavanje globalne temperature. Zbog toga što se razina CO₂ smanjila, javit e se potreba za oblicima Rubisca koji imaju ve u specifi nost prema CO₂ i organizmima koji su najbolje prilago eni tim novim uvjetima, a to su C4 biljke. Me utim, enzimi koji imaju ve u specifi nost, imaju manju kataliti ku mo zbog ega e se s vremenom ponovno povisiti razina CO₂, a posljedi no i temperatura. Na taj se na in, izmjenama organizama koji su prilago eni razli itim uvjetima i razinama CO₂ i koji sadrže razli ite oblike Rubisca s obzirom na njegovu specifi nost i kataliti ku mo , nekom vrstom povratne sprege se održava i stalna globalna temperatura i to upravo ona koja je najpogodnija za opstanak života. Zamislimo mogu i scenarij daljnje budu nosti u kojem dolazi do zagrijavanja Zemlje. Kako bi se održavala temperatura optimalna za život, evolucija e biti naklonjena onim oblicima Rubisca koji e mo i indirektno sniziti temperaturu tako što e eliminirati višak CO₂ iz atmosfere što e stabilizirati globalnu temperaturu.



Slika 10. Promjena razina CO₂ i O₂ kroz vrijeme. Preuzeto iz Nisbet i Nisbet (2008).

Sad je postalo jasnije zašto je Rubisco upravo onakav kakav jest. Možda se čini da je on, u usporedbi s ostalim enzimima neuinkovit, ali on je upravo onakav kakav treba biti kako bi održavao određenu razinu CO₂ u atmosferi, a samim time i globalnu temperaturu. Ukoliko bi Rubisco bio malo uinkovitiji nego što jest, uzimao bi više CO₂ iz atmosfere što bi dovelo pada globalne temperature, a možda i smrzavanja mora i oceana. Ukoliko bi bio manje uinkovit, previše preostalog CO₂ u atmosferi dovelo bi do porasta globalne temperature zbog čega bi mora i oceani postali topliji, anoksični i kiseli.

4.2 Ostale uloge Rubisca

Vratimo se sad malo na fotorespiraciju. Dosad se o fotorespiraciji govorilo u kontekstu ispravljanja grešaka Rubisca. No, fotorespiracija, osim te uloge, ima ulogu i u još nekim životno važnim procesima u biljci. Za početak, fotorespiracijom se odstranjuju metabolički intermedijeri koji imaju inhibitorno djelovanje. Fotorespiracija je jedini put u biljci za metabolizam fosfoglikolata koji bi se u suprotnom akumulirao. Fosfoglikolat jako inhibira trioza-fosfat izomerazu čak i pri veoma niskim koncentracijama. To posljedično interferira s regeneracijom RuBP u CBB ciklusu.

Fotorespiracija je o ito usko vezana s primarnim metabolizmom biljke (Peterhansel i sur. 2010). Ve ina me uprodukata fotorespiracije su tako er dio drugih metaboli kih puteva i fotorespiracija zna ajno doprinosi sintezi nekoliko aminokiselina. Fotorespiracija povezuje metaboli ke odjeljke stanice i time je idealno rješenje za prijenos informacije o energetskom statusu izme u tih odjeljaka. Konverzija glicina u serin u mitohondrijima je najvjerojatnije esencijalna za osiguravanje dovoljnih koli ina serina. Osim toga, predložene su odre ene uloge fotorespiracije u odre enim uvjetima rasta. Saharoza i škrob su krajnji cilj fotosinteze u liš u. U uvjetima jakog svjetla i dostupnosti ugljika, sinteza tih spojeva možda ne e biti u koraku sa sintezom fosforiliranih me uprodukata u CBB ciklusu. Ovo rezultira neravnotežom u otpuštanju fosfata tokom sinteze saharoze ili škroba i njihovog ponovnog korištenja u CBB ciklusu. To bi naposljetku moglo ograni avati fotosintezu. Pod takvim uvjetima, fiksacija kisika Rubiscom i reakcije fotorespiracije koje slijede mogle bi pružiti stanicama drugi izvor tih fosfata otpuštenih prilikom sinteze produkata poput glicina i serina umjesto saharoze i škroba.

Nadalje, fotorespiracija je glavni izvor H_2O_2 , a H_2O_2 je poznat kao signalna molekula uklju ena u odgovore na bioti ki i abioti ki stres. Tokom napada patogena H_2O_2 ima nekoliko uloga u obrani, primjerice poti e obrambeni sustav biljke koji uklju uje i o vrš ivanje stani ne stijenke i aktivaciju fitoaleksina. Nadalje, H_2O_2 može oštetiti patogene zbog svojeg reaktivnog potencijala. Kona no, H_2O_2 poti e hipersenzitivni odgovor i napadnuta stanica naposljetku podliježe programiranoj stani noj smrti.

5. Zaklju ak

Je li Rubisco zaista enzim koji griješi? Nakon svega o emu se raspravljalo u ovom radu, može se zaklju iti da Rubisco ipak nije onakav kakvim se na prvi pogled ini: istina je da svojom oksigenaznom aktivnoš u dovodi do energetskih gubitaka kod biljaka i da u tom pogledu griješi, ali bitno je napomenuti da je današnji oblik Rubisca najsavršeniji oblik proizašao iz mutacija i prirodne selekcije. Usporedbom razli itih oblika Rubisca i njihovih aktivnih mjesta te ciljanom mutagenезom potvr eno je da je bilo promjena u samom enzimu ime se on prilago avao i usavršavao ne bi li maksimalno smanjio svoju oksigenaznu aktivnost, a pove ao specifi nost prema CO_2 . Oblik III enzima, koji ima visoki afinitet prema kisiku, ciljanom se mutagenезom izmijenio, a mutirani protein imao je puno niži afinitet prema kisiku, gotovo na razini oblika I i II što potvr uje hipotezu da se Rubisco usavršavao.

Osim svoje glavne uloge, Rubisco ima indirektnu ulogu u održavanju temperature Zemljine atmosfere jer sudjeluje u kontroli razine CO₂. Nadalje, fotorespiracija, iako služi za ispravljanje grešaka Rubisca, sudjeluje i u eliminaciji intermedijera koji imaju inhibitorno djelovanje, u obrani od patogena te kontroli sinteze krajnjih produkata fotosinteze.

Ne može se sa sigurnoš u odgovoriti na pitanje zašto je Rubisco opstao unato svojoj nesavršenoj prirodi. Organizmima možda nije bilo isplativo razvijati posve novi sustav s posve novim enzimom koji bi zamijenio Rubisco. Zbog toga se Rubisco s vremenom usavršavao ne bi li vratio svoju po etnu kataliti ku mo i specifi nost. U drugu ruku, biljka možda pokušava nadoknaditi njegovu smanjenu u inkovitost time što ga sintetizira u ve im koli inama. To bi objasnilo zašto ga u biljnoj stanici ima u tako velikoj koli ini. Nadalje, kisik je zapravo nusprodukt fotosinteze i u po etku je bio toksi an za gotovo sve organizme. Samim time što je Rubisco reagirao s kisikom doprinosio je njegovoj eliminaciji iz stanice. Možda je na taj na in štitio stanicu, a i organizam od toksi nog djelovanja kisika. Problem je u tome što su to tek hipoteze koje je veoma teško dokazati. Budu i da se tu radi o vremenskom rasponu od nekoliko milijardi godina, teško je zaklju iti što je to dovelo do pojave raznih oblika Rubisca, koji su to uvjeti ‘tjerali’ enzim na usavršavanje i što je to što je uop e omogu ilo njegov opstanak. Znanstvenici odre enim metodama mogu donekle shvatiti kako se njegovo aktivno mjesto mijenjalo tokom godina, no potrebno je još puno istraživanja i sofisticiranih metoda koje bi omogu ile objašnjenje kinetike Rubisca i promjene njegove kataliti ke mo i. To bi nam možda moglo jednog dana pružiti odgovor na pitanje koje se ve toliko puta postavilo i omogu iti nam uvide u stvaranje boljeg enzima. Stoga, možda je ipak najbolje izjavu pretvoriti u pitanje: Je li Rubisco enzim koji griješi?

6. Literatura

- Bazzaz, F. A., Fajer, E. D. (1992) Plant life in a CO₂-rich world. *Scientific American* **266**, 68-74
- Gutteridge, S., Pierce, J. (2006) A unified theory for the basis of the limitations of the primary reaction of photosynthetic CO₂ fixation: Was Dr. Pangloss right? *Proceedings of the National Academy of Sciences* **103**, 7203-7204

- Karkehabadi, S. (2005) Structure-Function Studies of Ribulose-1,5-bisphosphate Carboxylase/Oxygenase: Activation, Thermostability, and CO₂/O₂ Specificity. Doctoral thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala 2005.
- Lorimer, G. H., Miziorko, H. M. (1980) Carbamate formation on the ε-amino group of a lysyl residue as the basis for the activation of ribulosebisphosphate carboxylase by CO₂ and Mg²⁺. *Biochemistry* **19**, 5321-5324
- Nisbet, E. G., Fowler, C. M. R., Nisbet, R. E. R. (2011) The regulation of the air: a hypothesis. *Solid Earth Discussions* **3**, 769–788
- Nisbet, E. G., Nisbet, R. E. R. (2008) Methane, oxygen, photosynthesis, rubisco and the regulation of the air through time. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* **363**, 2745–2754
- Peterhansel, C., Horst, I., Niessen, M., Blume, C., Kebeish, R., Kürkcüoglu, S., Kreuzalerb, F. (2010) Photorespiration. *The Arabidopsis Book*, e0130. 10.1199/tab.0130
- Spreitzer, R. J., Salvucci, M. E., (2002) RUBISCO: Structure, regulatory interactions, and possibilities for a better enzyme. *Annual Review of Plant Biology* **53**, 449-475
- Tabita, R. F., Hanson, T. E., Satagopan, S., Witte, B. H., Kreel, N. E. (2008a) Phylogenetic and evolutionary relationships of RubisCO and the RubisCO-like proteins and the functional lessons provided by diverse molecular forms. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* **363**, 2629–2640
- Tabita, R. F., Satagopan, S., Hanson, T. E., Kreel, N. E., Scott, S. S. (2008b) Distinct form I, II, III, and IV Rubisco proteins from the three kingdoms of life provide clues about Rubisco evolution and structure/function relationships. *Journal of Experimental Botany*, **59**, 1515–1524
- Taiz, L., Zeger, E. (2010) Plant Physiology Online, Fifth Edition, Chapter 8, Topic 8,3 Rubisco: A Model Enzyme for Studying Structure and Function
www.cambridgecapp.wordpress.com/improving-photosynthesis/rubisco/
[www.chemwiki.ucdavis.edu/Wikitexts/UC_Davis/UCD_Chem_124A%3A_Berben/Ribulose_1,5-bisphosphate_carboxylase_\(rubisco\)/Rubisco_1](http://www.chemwiki.ucdavis.edu/Wikitexts/UC_Davis/UCD_Chem_124A%3A_Berben/Ribulose_1,5-bisphosphate_carboxylase_(rubisco)/Rubisco_1)
www.lifeofplant.blogspot.com/2011/03/photorespiration.html
www.slideshare.net/thelawofscience/photosynthesis-calvin-cycle

7. Sažetak

Ribuloza-1,5-bisfosfat karboksilaza/oksigenaza, također poznat pod nazivom Rubisco, je enzim uključen u prvi korak fiksacije ugljika, u procesu kojim se atmosferski ugljikov dioksid u biljkama pretvara u energetske bogate molekule poput škroba i saharoze. Zbog svoje bifunkcionalne prirode, Rubisco, osim s CO_2 , stupa u reakciju i s molekularnim kisikom što indirektno uzrokuje gubitak energije, a i ugljika za biljke. Zbog te činjenice, smatra se da je Rubisco enzim koji griješi.

U ovom radu prikazuje se priroda Rubisca, objašnjavaju se uzroci njegovih grešaka i koje je njihovo značenje za biljke. Također, iznose se rezultati istraživanja kojima se potvrđuje hipoteza da se Rubisco tokom godina usavršavao i prilagođavao uvjetima. Zajedno s tim i ostalim saznanjima o drugim ulogama Rubisca poput indirektnog održavanja globalne temperature, može se zaključiti da je Rubisco upravo onakav kakav treba biti.

8. Summary

Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase, also known as Rubisco, is an enzyme which is involved in the first step of carbon fixation, process by which atmospheric carbon dioxide is converted by plants into energy-rich molecules such as starch and sucrose. Because of its bifunctional nature, Rubisco reacts, not only with CO_2 , but also with molecular oxygen, O_2 , which indirectly causes loss of energy and carbon for plants. Because of these facts, Rubisco is considered an enzyme which makes mistakes.

In this paper, nature of Rubisco is shown, causes of its mistakes are explained as well as their meaning for the plants. Also, the results of a research are shown which confirm the hypothesis that Rubisco evolved with time and got adapted to present environmental conditions. Along with this and insights in other roles of Rubisco such as maintaining global temperature, a conclusion can be made – Rubisco is exactly as it should be.